Verſuche über Beeinfluſſung des Wachstums bösartiger Geſchwülſte durch experimentell erzeugte Obliteration der Lymphbahnen des Geſchwulſtbettes.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung
der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich Wilhelms-Universität
zu Bonn.

Vorgelegt am 15. Oktober 1936
von
Bodo Koch
aus Krefeld.

Bonn 1936
Anton Brand, Bonn.

Gedruckt
mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Bonn

Referent: Prof. Dr. Freiherr v. Redwitz.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Zwei Fälle [1] — nicht veröffentlicht — einer kürzlich beobachteten Heilwirkung eines ſpontanen, interkurrenten Erysipels auf ein primäres Hautsarkom des Gesichtes in der Schläfengegend (histologisch Spindelzellſarkom) und ein primäres Hautkarzinom der Ferſe (hiſtologiſch Baſalzellenca.) gaben Veranlaſſung, die heilſame Wirkung des Eryſipels noch einmal zu überprüfen, um evtl. dieſe Heilwirkung zu wiederholen.

Beobachtungen über die curative Wirkung ſpontaner Eryſipele ſind nicht neu. Die erſte Beſchreibung ſtammt anſcheinend von dem Berliner Arzt Buſch [2] (1866); weitere gaben Durante [3], Moſengeil [4], Biedert [5], Bruns [6], Gerſter [7], Bull [8], Hutchinſen [9], Fenney [10], Kleeblatt [11] u. a. Eine zuſammenfaſſende kritiſche Beſprechung von Bruns verſucht dieſen heilenden Einfluß zu deuten. Unter Ablehnung der älteren Anſicht — allenfalls hiſtoriſch intereſſant — nach der das Zellmaterial bösartiger Neoplasmen (ſowie auch luiſcher und lupöſer Gewebsveränderungen, die gelegentlich einmal durch Eryſipel günſtig beeinflußt werden ſollen) nach erheblicher initialer Leukotaxis und anſchließendem rapiden fettigen Leukozytenzerfall „per infectionem“ in den gleichen Degenerationsprozeß gezogen würde, dem eine beendende Reſorption folge, nahm Bruns an, daß die Eryſipelkokken die krankhaft veränderte Zelle angriffen und zum Zerfall brächten.

Dieſe Erklärung iſt infolge der ungenauen pathologiſchen und biologiſchen Vorausſetzungen nicht zutreffend.

Immerhin ſuchte man in der Folge das Eryſipel zur Therapie inoperabler Krebsfälle nutzbar zu machen. Nach der Entdeckung des — wie man glaubte — ſpezifiſchen Eryſipelkokkus durch Fehleiſen wurde ein Verſuch nach dem andern angeſtellt, durch intrakutane Injektion von Aufſchwemmungen Fehleiſenſcher Kulturen ein Eryſipel zu erzeugen. Leider verurſachte eine derartige Injektion nur ſehr ſelten eine fortſchreitende eitrige Lymphangitis;

die Wirkung beſchränkte ſich in der Regel auf eine kutane und ſubkutane Abszeßbildung am Ort des Depots.

Als Grund der mangelhaften Erfolge mag anzuſehen ſein, daß die Züchtung der in ihrer Virulenz genügend herabgeſetzten Kokken nicht gelingt [12], außerdem dürften jahreszeitliche Einflüſſe eine Rolle ſpielen — das Eryſipel tritt mancherorts, z. B. am Niederrhein im Frühjahr und Herbſt häufiger als in den anderen Jahreszeiten auf. Vielleicht wirkt die „Abkühlungsgröße der Luft“ (der ſogen. Katawert) auf ihre Weiſe mit; die Klärung ihres phyſiologiſchen Einfluſſes iſt noch nicht weit fortgeſchritten, ſie verſpricht intereſſante Ergebniſſe. Schon Paſteur hat gezeigt, daß normalerweiſe gegen Milzbrand reſiſtente Vögel infiziert werden, wenn man ihre Tempratur von 41—42° C auf 37° C herabſetzt [13].

Da es nicht möglich war, ein curatives Eryſipel durch gewollte Infektion zu erzielen, verſuchte man Heilung mit Toxinen oder den Immunſeren von streptococcus erysipelatus zu bringen. In der Literatur finden ſich Berichte von Emmerich und Scholl [14], Richet und Hericourt [15], Coley [16], Czerny (Heidelberg) [17], Laſſar [18], Sprouk [19], Friedrich [20], Winberg [21], u. a. Zuſammenfaſſend läßt ſich ſagen, daß die Prüfer durch die Einwirkungen der verſchiedenen Seren oder Toxine anfänglich Erfolge in Form einer Verkleinerung der Geſchwulſt feſtſtellen konnten, aber nach kurzer Dauer folgte ſtets ein beſchleunigtes und ſchrankenloſes Weiterwuchern. Außerdem hatte die Injektion von Stoffen, die oft nur unvollkommen von noch virulenten Bakterien befreit werden konnten, in verſchiedenen Fällen derartig alarmierende Symptome zur Folge, daß dieſe Therapie als zu gefährlich abgelehnt werden mußte.

Der praktiſchen Anwendung wurde ſo ein Ziel geſetzt; doch bemühte man ſich weiterhin um Klärung der Heilwirkung. Kaposi [22] ſah das bei der Roſe auftretende hohe Fieber als wichtigſten Faktor an, eine Anſicht, die ſpäter von Strasser [23] erneut ausgeſprochen wurde. (Nach ihm tritt auch an Stellen, die das Eryſipel gar nicht erreicht hat, eine Wirkung auf. Dieſe Beobachiſt beſtimmt falſch, ſie wurde auch nicht beſtätigt.) Wolfheim [24]

glaubte in neueſter Zeit die Einwirkung der Eryſipelkokken als unſpezifiſch „in ihrer Eigenſchaft als artfremde Eiweißkörper wirkend“ erklären zu können.

Die Anſicht von Kaposi und Strasser kann ich nicht teilen. Es iſt möglich, daß höheres Fieber durch Aktivierung der antiblaſtiſchen Kräfte des RES. den Verlauf der Tumorerkrankung vorübergehend günſtig beeinfluſſen kann. Vielleicht ſind auch die anfänglichen Erfolge der oben erwähnten Sero- und Toxitherapie auf eine derartige Mobiliſierung des RES. durch die den Injektionen folgenden Fieberanfälle (Serum-, Toxin-, artfremde Eiweißwirkung!) zu erklären. Auch bei manchen anderen fieberhaften Erkrankungen z. B. Malaria ſehen wir eine gewiſſe Beeinfluſſung des Tumors [25]. Das iſt aber nie Heilung, wie ſie nach einer ganzen Reihe von Fällen nach Eryſipel von zuverläſſigen Autoren eindeutig beſchrieben und auch ſelber beoachtet worden iſt.

Auch die Anſicht Wolfheims iſt abzulehnen. Er führt die Heilwirkung des Eryſipels auf eine artfremde Eiweißwirkung zurück. Dieſe Möglichkeit beſteht ſelbſtverſtändlich, doch iſt nicht einzuſehen, warum dieſer gleiche Heilungseffekt nicht auch bei anderen Streptokokkenerkrankungen, die ebenfalls mit hohem Fieber einhergehen können, eintritt. Die Identität des gewöhnlichen streptococcus pyogenes mit dem Streptokokkus Fehleiſen iſt nachgewieſen; Petruſchka erzielte einmal bei zwei Carcinompatienten durch Impfung mit Streptokokken, die aus peritonitiſchem Eiter gezüchtet waren, ein echtes Eryſipel.

Unſpezifiſche Gründe können alſo nicht allein für die beobachteten Heilungen maßgebend ſein, es muß noch ein anderes, auf den Tumor direkt einwirkendes Moment hinzukommen. Das dürfte die im Verlauf eines E. auftretende Verſtopfung der Lymphkapillaren und -präkapillaren des Geſchwulſtbettes ſein, die die Ernährung des Tumors ſo weit ſchädigt, daß er „abwelkt“, wie ein älterer Autor treffend ſagte. Die Bedingungen dieſes „Abwelkens“, alſo der Nekroſe des Geſchwulſtgewebes laſſen ſich durch das Studium der Ernährungsbedingungen des Tumors im allgemeinen und des pathologiſch veränderten Gewebes erklären.

Ausſchluß von der Blutverſorgung kann einen Tumor nicht weſentlich ſchädigen. Entſprechende Verſuche wurden verſchiedentlich bekannt gegeben, am beſten ſind wohl die von Duſchl[26]. Er impfte Ratten mit einem Spindelzellſarkom auf beide Hinterbeine und nahm an einem Bein wechſelweiſe Durchtrennungen am Gefäß-Nervengerüſt vor. Der Tumor des anderen Beines, das von Eingriffen ganz verſchont blieb, diente zur Kontrolle. Er erzielte durch dieſe atrophiſche Ligatur, die eine O_2-Verſorgung der peripheren Teile einſchließlich des Tumors unmöglich machte, eine von den Zehen aufſteigende Nekroſe der Extremität; der Tumor blieb aber unbeeinflußt, d. h. er zeigte keine ſtärkere zentrale Nekrotiſierung als gewöhnlich und blieb vor allem mit normaler Ausbeute transplantabel.

Wir wiſſen nun, daß Schnitte des Flexner-Carcinoms nach 24ſtündigem, Schnitte des Jenſen-Sarkoms nach 72ſtündigem Sauerſtoffmangel mit normaler Impfausbeute transplantabel, d. h. ungeſchädigt ſind, falls während des O_2-Mangels Glukoſe zur Verfügung ſtand (Okamoto)[27]. Umgekehrt genügt auch die Atmung ohne Gärung — alſo ohne Glukoſe — um das Leben der Tumorzelle zu erhalten, wie die Verſuche von Warburg, Wind und Negelein[28] beweiſen. Nach den Ergebniſſen der gleichen Autoren genügt aber eine nur 4ſtündige Unterbrechung beider energieliefernden Faktoren (des Atmungsſauerſtoffs und der Gärungsglukoſe), um die Tumorzellen abzutöten. Der Beweis wurde durch Einbringung der Tumorſchnitte nach der bekannten Warburgſchen Methode in O_2- und glukoſefreies Serum erbracht; es ergab ſich, daß nach vier Stunden ein meßbarer Stoffwechſel nicht mehr beſtand.

Vergleichen wir die Ergebniſſe der Warburgſchen Schule mit den chirurgiſchen Verſuchen, ſo können wir als geſichert annehmen, daß die Atmung durch die Ligatur der Gefäße ausgeſchaltet wurde. Weiterhin muß die Verſorgung mit Glukoſe durch das ſtrömende Blut ebenſo ſiſtieren, und trotzdem erſcheinen die Geſchwulſtzellen in ihrer Ernährung nicht geſtört.

Die Vermutung muß ſich aufdrängen, daß der Tumor dann auf Wegen, die der Ernährung normalerweiſe nicht dienen, ſeine energieliefernden Stoffe bezieht. Es bleiben anatomiſch nur die Lymphbahnen des Geſchwulſtbettes übrig. Sie können nicht den für den Atmungsſtoffwechſel nötigen Sauerſtoff enthalten, aber ihre Lymphe führt alle die Stoffe, die für die Glykolyſe notwendig ſind (Peterſen, Jaffe, Lewinſohn und Hughes)[29]. Die Geſchwulſtzellen filtern ſie ab und verwenden ſie zur Energielieferung nach ihrem eigenen Stoffwechſel durch Abbau bis zur Milchſäure. Werden dieſe Wege auch verſtopft, ſo ſiſtiert die Nährſtoffbeſchaffung für den Tumor gänzlich — und das iſt die Wirkung des interkurrenten Eryſipels. Das wird aus der Beſchreibung der Hautveränderungen, die dieſe Krankheit verurſacht, verſtändlich.

Das Eryſipel iſt ein eitriger Entzündungsprozeß der Haut mit fortſchreitender Lymphangitis, Phlebitis und Thrombophlebitis (Kulenkampf)[30]. Die Krankheit hinterläßt, beſonders bei der chroniſchen rezidivierenden Form — und gerade dieſe hat nach der alten kliniſchen Erfahrung die günſtige Einwirkung auf Geſchwülſte — typiſche Veränderungen der Haut. Der Beginn der Erkrankung zeichnet ſich durch eine auffallende Zirkulationsſtörung in der Cutis aus. Die Lymphgefäße ſind erweitert, in ihnen finden ſich Kokkenkolonien, reichlich Leukozyten und Fibrin bis zur fibrinöſen Thrombenbildung. Charakteriſtiſche Veränderungen erleidet die kollagene Subſtanz, die zunächſt Erweichung, ſpäter Gerinnung zeigt, (Unna)[31]. Die Haut, die bis jetzt eine weiche teigige Beſchaffenheit beſaß, verhärtet ſich, ſie tritt in das Stadium der „harten Elephantiasis“ (Unna). Es kommt zu einem Bild, das man mit der Perilymphangitis fibrosa (Ackerknecht u. Krauſe)[32] vergleichen könnte. Kollagene Faſerelemente und Bindegewebe werden reichlich neu gebildet. Die Wandungen der Lymphbahnen werden verdickt, eingeengt, in der Folge durch die weitere Wucherung des perivasculären Gewebes ſtenoſiert bis zur völligen Verödung (Winkler)[33]. Im Endſtadium iſt die Haut holzähnlich verdickt, die Schnittfläche erſcheint als breite Bindegewebsſchwarte (Litt)[34] oder als „ſolides Oedem“ (Delbanco u. Callomon)[35]. Zum

Stoffaustauſch iſt ſie ganz ungeeignet. Die Geſchwulſt, die in dieſe undurchläſſige Schwarte eingebettet iſt, kann weder die zur Atmung noch die zur Glykolyſe erforderlichen Stoffe erhalten und ſtirbt ab. [Nach Warburg iſt die Empfindlichkeit des Tumors in toto (alſo nicht der iſolierten Tumorzelle) gegenüber der Empfindlichkeit von Normalgewebe auf Ernährungsſtörungen deutlich erhöht.]

Die Obliteration der Lymphbahnen des Geſchwulſtbettes müßte auch den lymphogenen Weitertransport von Geſchwulſtzellen aus dem Geſchwulſtbereich verhindern können. (Allerdings beſteht in der experimentellen Krebsforſchung über die Ausbreitungswege der Geſchwülſte im Gegenſatz zur Klinik noch keineswegs eine einheitliche Auffaſſung!)

Eine Anſicht ſtammt von Goldmann[36], der in ſeinen „Anatomiſchen Unterſuchungen über die Verbreitungswege bösartiger Geſchwülſte" folgendes feſtſtellt: „Bei Sarkomen und Carcinomen werden ſchon im primären Tumor Blutgefäße, ſpeziell die Venen von der Neubildung betroffen. Eine Verſchleppung von Geſchwulſtzellen durch die Blutwege kann alſo bei Carcinom und Sarkom direkt, ohne Lymphgefäße eintreten." Es iſt fraglich, ob dieſe Arbeit nicht zu ſehr den pathologiſch-anatomiſchen Befund, alſo das Schlußſtadium in den Vordergrund ſchiebt. Selbſtverſtändlich arrodiert die Geſchwulſt bei ihrem ungeordneten Wachstum die Gefäße, die in ihrem Wege ſtehen, es kommt auch zu Thromben von Geſchwulſtmaſſen, die ſich löſen und durch Verſchleppung eine Metaſtaſe da, wo ſie hingeſchwemmt wurden, bilden können. Das iſt aber nicht der einzige Weg einer metaſtatiſchen Ausbreitung einer Geſchwulſt.

Es kann nicht im Rahmen dieſer Arbeit liegen, die ganze Literatur dieſer Frage mit ihrem für und wider zu beſprechen. Ich weiſe hier nur auf die ausgedehnten Experimente von Flacks[37] hin, der Rattenſäuglinge in die Muskulatur des Oberſchenkels impfte und die bei den jungen Tieren mit großer Regelmäßigkeit auftretenden Lymphdrüſenmetaſtaſen mit dem Primärtumor zuſammen ſo in Serienſchnitte zerlegte, daß er das ganze ergriffene Gebiet bis weit ins Geſunde verfolgen und unterſuchen konnte.

Er tötete ſeine Tiere in verſchiedenen Zeitabſchnitten nach der bei allen gleichmäßig vorgenommenen Impfung und erhielt folgende Reſultate: „Schon einige Tage nach der Impfung ſind in der Lymphdrüſe der geimpften Seite Zellen nachzuweiſen, die aus dem zur Impfung verwendeten Sarkom ſtammen. Die Zellen befinden ſich kurz nach der Impfung nur im Marginalſinus an der Einmündung der Lymphgefäße. Bei längerem Beſtehen der Geſchwulſt rücken ſie in den Intermediärſinus ein. Die zweite Drüſe, die die Lymphe aus dem normalen Oberſchenkel ſammelt, enthält dieſe Zellen nicht. Es iſt alſo offenſichtlich, daß die Verbindung durch die Lymphgefäße, nicht durch die Venen gegeben iſt, ſonſt müßte die Metaſtaſe auch in der anderen Seite ſein."

Es wurden bekanntlich Verſuche gemacht (K ü m m e l jr. u. a.), die Metaſtaſenbildung durch Freilegung des Ductus thoracicus und Abſaugung der Lymphe nach außen zu verhindern. Der Grundgedanke war jedenfalls, die krebſigen Elemente nicht in den Blutſtrom gelangen zu laſſen, der ſie im ganzen Körper verteilt. Erfolge konnte dieſe Therapie nicht haben, die zur Hervorbringung einer Metaſtaſe geeigneten Zellen werden bereits in den Filterapparaten der einzelnen regionären Drüſen zurückgehalten und können ſich dort anſiedeln.

Eine unmittelbare Verlegung des Geſchwulſtbettes durch Lymphbahnobliteration müßte die metaſtatiſchen Zell-Elemente ſchon vor den filternden Lymphknoten auffangen können und immobiliſieren. Ebenſo müßte dieſe Verlegung den Übertritt abnormer Stoffwechſelprodukte in den Körperkreislauf zum Teil verhindern, d. h. dem Entſtehen der Krebskachexie entgegenwirken.

Dieſe theoretiſchen Vorſtellungen über den Einfluß der Lymphbahnverſtopfung auf Geſchwülſte wurden experimentell unterſucht.

Um ein Krankheitsbild ähnlich dem des Eryſipels zu erzeugen, wurden Verſuche mit Bac. Novyi (auf Anfrage empfohlen von Herrn Prof. Dr. Mießner-Hannover) und Saccharomyces farciminosus (empfohlen von Herren Prof. Zwick-Gießen und Schnürer-Wien) angeſtellt.

Verſuchstiere waren Ratten und weiße Mäuſe, die künſtlich

geſetzte Impftumoren (Spindelzellenſarkom und Rouxcarcinom trugen. Die Ausgangstumoren ſtammen aus den wiſſenſchaftlichen Laboratorien der I.G. Farbeninduſtrie A.G. in Elberfeld.

Zur Überimpfung bewährte ſich folgendes Verfahren:

Von einem unmittelbar vorher getöteten Tiere wurde unter aſeptiſchen Kautelen friſches Tumorgewebe peripher entnommen und unter Kühlung mit der 15fachen Menge ſteriler phyſiologiſcher Kochſalzlöſung in einer Reibſchale zerrieben. Es entſteht ein dünnflüſſiger, durch Spuren beigemengten Blutes rot gefärbter Zellbrei, der mit einer dicken Kanüle in eine Injektionsſpritze aufgeſaugt werden kann. Die zu impfenden Tiere wurden enthaart, die Haut mit Jodtinktur eingerieben und 0,1 ccm der Zellaufſchwemmung injizert. Als Ort der Geſchwulſtanſetzung wurde Oberſchenkel oder mittlerer Rücken gewählt. Sowohl bei der Sarkom- als auch der Ca-Impfung ergab ſich eine poſitive Impfausbeute von 95% aller Tiere, die reſtlichen waren auch bei wiederholter Impfung (dreimal vorgenommen) reſiſtent. Nach 12 bis 14 Tagen hatte der Tumor regelmäßig etwa Kirſchkerngröße erreicht; innerhalb von 7—8 Wochen wuchs er auf das 3—4fache Volumen an. In dieſem Stadium gingen die unbehandelten Mäuſe ein, allerdings ohne vorherige Kachexieerſcheinungen zu zeigen. Die Ratten trugen bei gleicher Dauer (insgeſamt 9—10 Wochen) Tumoren von Hühner- bis Enteneigröße. Metaſtaſen traten bei unbehandelten Tieren häufig in Form benachbarter ſubkutaner Tumoren auf, nie an inneren Organen. Spontane Rückbildungen habe ich nicht geſehen.

Auf dem Durchſchnitt ließen ſich makroſkopiſch mehrere Schichten unterſcheiden: In der Mitte die zentrale Einſchmelzungszone, daran grenzend eine Nekroſenſchicht, am Rande friſches Tumorgewebe mit bindegewebiger Abkapſlung. (Zur Überimpfung verwendbar!) Dieſe zarte Kapſel iſt bei Rattenſarkomen üblich, weniger ausgeprägt iſt ſie beim Mäuſecarcinom. Die Geſchwulſt wächſt meiſt nach zwei Richtungen deſtruierend weiter, gewöhnlich gegen Haut und Muskulatur oder gegen Wirbelſäule und Rippen. Mikroſkopiſch zeigten ſich bei dem Sarkom die bekannten regelloſen Spindelzellenzüge; die Größe der einzelnen Zellen ſchwankt

in weiten Grenzen. Reichliche Zellteilungsfiguren und zahlreiche atypiſche Mitoſen vervollſtändigten das Bild. Gefäßquerſchnitte waren ſelten zu ſehen, dementſprechend verfielen die zentralen Partien mehr oder weniger ausgedehnten Degenerationsprozeſſen.

Das verwandte Mäuſecarcinom zeigte drüſigen Aufbau; regellos angeordnete — „labyrinthartige" — verzweigte Schläuche, von zylindriſchen Epithelzellen ausgekleidet, mit vergrößerten und veränderten Zellformen, die keine Sekrete mehr lieferten. Stellenweiſe war die Epithellage einſchichtig und der Drüſencharakter dadurch deutlicher erhalten; ſtellenweiſe lagen mehrere Schichten und größere Zellhaufen zuſammen, die nicht mehr von Baſalmembranen umgrenzt wurden. Am Rand wuchſen die Drüſenelemente infiltrierend in das geſunde Gewebe.

Als genügend Tumortiere zur Verfügung ſtanden, begannen die Verſuche. Die praktiſche Ausführung gliederte ſich in folgende Serien:

Verſuschreihe 1: Prüfung der Wirkung des Toxins von B. Novyi auf geſunde Ratten und Mäuſe. (Zu den Verſuchen wurden 35 Mäuſe und 15 Ratten verweidet.)

Verſuchsreihe 2: Prüfung der Wirkung einer Aufſchwemmung mit gleichbleibender Keimzahl von Saccharomyces farciminosus auf geſunde Ratten und Mäuſe (35 Mäuſe, 15 Ratten.)

Verſuchsreihe 3: Prüfung der Wirkung der intratumoralen Injektion (i.t.I.) des Toxins von B. Novyi auf Ca-Mäuſe. (93 Verſuchstiere, 91 Kontrolltiere.)

Verſuchsreihe 4: Prüfung der Wirkung der i.t.I. des Novyi-Toxins auf Sarkom-Ratten. (45 Verſuchstiere, 45 Kontrolltiere.)

Verſuchsreihe 5: Prüfung der Wirkung der i.t.I. einer Aufſchwemmung von Saccharomyces farciminosus auf Ca-Mäuſe. (99 Verſuchs-, 99 Kontrolltiere.)

Verſuchsreihe 6: Prüfung der Wirkung der i.t.I. einer Aufſchwem-

dung S. f. auf Sarkom-Ratten. (37 Verſuchstiere, 35 Kontrolltiere.)

Zur Prüfung der Einwirkung der Erreger auf das tumortragende Tier wurde verwandt:

1. die durchſchnittliche Lebensdauer,
2. die hiſtologiſche Unterſuchung,
3. die Stoffwechſelunterſuchung von Tumorſchnitten nach O. Warburg,
4. die Prüfung der Transplantationsfähigkeit des Tumorgewebes auf friſche Verſuchstiere (aus einem Wurf, deſſen Tumorreſiſtenz prozentual feſtgeſtellt worden war).

(Die Bewertung nach Punkt 1. und 2. iſt allgemein üblich, die nach 3. und 4. neu und recht brauchbar.)

Ergebniſſe der Verſuchsreihen 1, 3 und 4: Toxinwirkung von B. Novyi auf normale und tumortragende Ratten und Mäuſe.

Der Novyiſche Bazillus des malignen Oedems [38] iſt ein kleines, peritrich gegeißeltes Stäbchen, das in der Jugendform gram-poſitiv, ſpäter gram-negativ iſt. Er iſt obligater Anaerobier, zeigt üppiges Wachstum in Leberbouillon und iſt für alle Tiere, beſonders die üblichen Laboratoriumstiere ſowie für den Menſchen hochpathogen. In Bouillonkulturen ſondert er ein Toxin ab; das Filtrat hat vom 3. bis zum 6. Kulturtag die größte Wirkſamkeit. Es iſt thermolabil und wird durch Alkohol und Ammonſulfat zerſtört.

Die Doſis letalis wurde für die weiße Maus (15 g Gewicht) mit 0,19 ccm ſubcutan der Verdünnung 1 : 1000 beſtimmt, eine Ratte im Durchſchnittsgewicht von 48 gr wurde durch 0,55 ſubcutan eben getötet.

Als Verſuchsdoſen wurden entſprechend 0,12 ccm reſp. 0,45 ccm verwendet.

Die Injektion verurſachte bei Ratten und Mäuſen in der näheren, ſeltener auch weiteren Umgebung des Depots ein mehr oder minder blutiges, manchmal farbloſes, ſulzig glaſiges Oedem des Subcutis und der tieferliegenden Schichten, manchmal (bei Überdoſierung?) fanden ſich kleine Gasbläschen im Gewebe. Bei tödlichen

Doſen wurde bei der Sektion regelmäßig ein farbloſer bis rötlicher Erguß in der Bauch- und Pleurahöhle gefunden.

Nach etwa ſechs Tagen begann der Prozeß ſich zurückzubilden, palpatoriſch (ganz zweckmäßig mit einer biegſamen Sonde vorzunehmen) war eine ſchärfere Begrenzung und Verhärtung des infiltrierten Gewebes bis zur Narbenbildung zu fühlen. Mikroſkopiſche Schnitte zeigten reichliche Bindegewebsneubildung, beſonders in der Umgebung der Blut- und Lymphgefäße; die Gefäßlichtungen waren im ganzen verengt und ſchienen ſtreckenweiſe gänzlich verödet. Nach dieſen Vorbereitungen wurde in Impftumoren in verſchiedenen Zeitabſtänden nach der Tumorpfropfung die Verſuchsdoſis injiziert; weiterhin bei 12 Mäuſen und 7 Ratten in das vorher durch Toxinwirkung verödete Gewebe Krebsbrei injiziert, um einen Impftumor zu erzeugen.

Es ergab ſich:

1. Bei beiden Tieren war in keinem Fall in dem narbig veränderten Gewebe ein Tumor implantabel (12 Mäuſe, 7 Ratten).
2. Die Lebensdauer der mit Toxin behandelten Tiere (93 Mäuſe, 45 Ratten) war durchſchnittlich bei Mäuſen 14 Tage, bei Ratten 22 Tage länger als die der unbehandelten Tiere (91 Mäuſe und 45 Ratten), das entſpricht einer Verlängerung von 25% ſeit Krankheitsbeginn. Die Tumoren blieben in der ganzen Zeit hart und deutlich verkleinert gegenüber den unbehandelten, im Terminalſtadium — etwa 5 Tage — wucherten ſie allerdings erheblich.
3. Die hiſtologiſche Unterſuchung bei 37 Mäuſen und 19 Ratten zeigte übereinſtimmend ausgedehnte Rückbildungsvorgänge im Sinne der Fettmetamorphoſe, hyalinen Degeneration, Pyknoſe und Karyolyſe der Zellen. Häufig bildeten ſich demarkierende Entzündungszonen; die Erfahrung lehrte, daß gerade dieſe Fälle zu Ulceration und Verjauchung neigten. Gewöhnlich am Rande, manchmal auch mehr zentral lagen kleinere Reſte von anſcheinend unverſehrtem ſarkomatöſem oder carcinomatöſem Gewebe.

4. Die manometrische Untersuchung des Atmungs- und Gärungsstoffwechsels nach O. Warburg wurde bei 16 Mäusen und 10 Ratten durchgeführt. Es ergab sich, daß das mit Toxin behandelte Geschwulstgewebe eine Atmungsgröße von durchschnittlich 37% O_2-Verbrauch bei Mäusen (Grenzwerte 2,3—81%) und 42% bei Ratten (Grenzwerte: 5,1 bis 98%), demnach eine Glykolyse von ca. 63% und 58% aufwies. Unbehandeltes Tumorgewebe oxydiert dagegen von 13 Molekülen Zucker nur 1 Molekül und spaltet 12 (= 7,7 zu 92,3%); normales erwachsenes Gewebe zeigt keine Glykolyse (= 100% O_2-Verbrauch).
5. Eine Untersuchung auf Erhaltung der Transplantationsfähigkeit wurde bei 15 Mäusen und 4 Ratten durchgeführt. Von jedem Tier wurde nach der eingangs beschriebenen Methode ein Krebs- bzw. Sarkomzellbrei hergestellt, der jeweils 5 Tieren, die nicht tumorresistenten Würfen entstammten, injiziert wurde. In keinem Falle ließ sich bei sämtlichen 60 resp. 20 Tieren (Mäuse und Ratten) ein Tumor überimpfen.

Ergebnisse der Versuchsreihen 2, 5 und 6: Einwirkung von Aufschwemmungen von Saccharomyces farciminosus auf normale und tumortragende Tiere.

Der Saccharomyces farciminosus (Tokishige)[39] ist der Erreger der Lymphangitis epizootica, einer langsam verlaufenden Entzündung der Lymphwege im Sinne einer Peri- und Paralymphangitis chronica, die zur Thrombosierung und Verödung der befallenen Lymphwege führt. Die Krankheit ist übertragbar, besonders leicht auf den Einhufer, auch auf den Menschen, während die Pathogenität des Erregers auf die üblichen Laboratoriumstiere nicht einheitlich beurteilt wird.

Die Übertragung auf die zur Verfügung stehenden Ratten und Mäuse war mit großen Schwierigkeiten verknüpft. Die subkutane Injektion führte im allgemeinen zur Abszedierung und Ulceration, auch Wiederholung ergab keine besseren Erfolge. Daher bin ich dem wissenschaftlichen Laboratorium der Behringwerke zu Dank

verpflichtet, das mir durch Vermittlung von Herrn Prof. Herzberg (Düſſeldorf) Aufſchwemmungen von Kulturen zur Verfügung ſtellte, die auf flüſſigen Nährböden gewachſen waren und bedeutend beſſere Infektions-Reſultate lieferten.

Die Injektion einer Aufſchwemmung von 20 000 000 Keimen-ccm ergab bei 35 Mäuſen (0,4 ccm) und 15 Ratten (2,5 ccm) in 27 reſp. 13 Fällen eine ſich im Verlauf von durchſchnittlich 9 reſp. 11 Tagen entwickelnde derbe über die Umgebung erhabene Infiltration, die nach etwa 20tägigem Beſtehen bindegewebig-narbig zurückgebildet wurde.

Hiſtologiſch bot ſich in dieſem Stadium das Bild einer chroniſch verlaufenden Entzündung mit Proliferation der Gefäßendothelien, Bildung von Fibroblaſten und Anſammlung zahlreicher Plasmazellen. Die Gefäßwandungen waren erheblich verdickt, ſchienen durch dicke neugebildete perivasculäre Bindegewebsmaſſen zuſammengedrückt und ſtellenweiſe ſtenoſiert zu werden.

Die Verſuche wurden in der gleichen Reihenfolge wie bei B. Novyi durchgeführt und ergaben:

1. In das durch Injektion von S. f.-Aufſchwemmung entzündete und wieder abgeheilte Gewebe ließen ſich keine Tumoren implantieren (10 Mäuſe, 13 Ratten).
2. Die Lebensdauer der behandelten Tiere (99 Mäuſe, 37 Ratten) war im Durchſchnitt 10 reſp. 16 Tage länger als die der unbehandelten Kontrolltiere (99 und 35), das entſpricht einer Verlängerung von ca. 17% ſeit Krankheitsbeginn. Die Tumoren waren ebenſo wie bei Novyi-Einwirkung erhärtet und verkleinert, um nur einige Tage vor dem Tod der Tiere ſtärker zu werden.
3. Die hiſtologiſche Unterſuchung von Schnitten durch die Tumoren von 32 Mäuſen und 18 Ratten ergab die gleichen Degenerationserſcheinungen, wie ſie bei der Unterſuchung der B. N. behandelten Tumoren geſchildert wurden.
4. Die Unterſuchung des Atmungs-Stoffwechſels ergab bei 16 Mäuſen und 10 Ratten eine Senkung des O_2-Verbrauchs von durchſchnittlich 25% beim Mäuſecarcinom

(Grenzwerte: 8,9—47,5%) und 17% beim Rattenſarkom 1,4—32,7%).

5. Transplantationsfähig war von den geprüften 15 Mäuſe- und 6 Rattentumoren ein Rattenſarkom, das bei der Überimpfung auf 5 Tiere bei 3 derſelben ein neues Sarkom erzeugen konnte. Zwei führten in der üblichen Zeit (7 Wochen) zum Tode, eins bildete ſich ſpontan zurück.

Kritiſche Zuſammenfaſſung.

Die Verödung der Gefäß- insbeſondere der Lymphbahnen des Geſchwulſtbettes beeinflußt die Tumoren derart, daß die Metaſtaſenbildung verhindert, die Lebensdauer der Tiere verlängert, eine Schädigung des Tumors im Sinne hiſtologiſch nachweisbarer verſtärkter Nekroſe, mangelnder Transplantationsfähigkeit und verringerter Glykolyſe des Tumor-Gewebes als Ausdruck eines geſtörten Stoffwechſels als geſichert angenommen werden muß.

Allerdings kranken die vorgenommenen Verſuche an einem Übelſtand: Die Einwirkung des B. Novyi iſt nicht genau genug doſierbar, außerdem kann das Toxin nicht mehrfach angewendet werden, weil die Giftigkeit doch zu groß, die „therapeutiſche Wirkungsbreite" alſo zu ſchmal iſt.

S. farciminosus wächſt dagegen zu langſam, ſodaß ein zu großes Mißverhältnis zwiſchen dem oft rapiden Wuchern des Tumorgewebes und der langſamen Infiltration durch die Infektion zu Ungunſten der Infektion beſteht.

Ich plane, zu gegebener Zeit die Verſuche fortzuſetzen und zwar mit nicht haemolyſierenden Streptokokken, die mir Herr Dr. Beadle vom Londoner Tropenhygieniſchen Inſtitut empfahl. Allerdings ſind die Schwierigkeiten erheblich. Dr. Beadle, ein ausgezeichneter Kenner dieſes Gebietes, ſchreibt mir: „.... Über die Doſierung muß ich einſchalten, daß dieſe manchmal ſehr läſtig und ſchwierig iſt; es braucht jedenfalls etwas Erfahrung und Geduld. Die Schwierigkeiten ſind zwei: Die Virulenzverſuche müſſen auf

ſtatiſtiſche Methoden gegründet ſein, Arbeit mit vielen Tieren iſt notwendig. Es iſt manchmal höchſt ſchwierig, die Virulenz, nachdem ſie mit vieler Mühe beſtimmt iſt, konſtant zu halten, ſie wechſelt immer ſehr bei der langen Züchtung auf künſtlichen Nährböden."

Die Arbeit iſt die gleiche wie die der Hervorrufung eines künſtlichen Eryſipels, nur daß ich nicht von der Annahme eines Antagonismus zwiſchen Eryſipelkokkus und Tumorzelle uſw. ausgehe, wie die bisherigen Autoren, ſondern die Hauptaufgabe in der Verſtopfung der Kapillaren und beſonders der Lymphkapillaren ſehe. Dieſes Ziel müßte zu erreichen ſein.

Literatur und Angaben.

1.) 2 Fälle, beobachtet in der Chir. Klinik d. Med. Akad. Düſſeldorf (Prof. Dr. Frey) und der Chir. Univ.-Klinik Würzburg (Dir.: Prof. Dr. König). 2.) Buſch, Berl. klin. Wſchr. 1866. 3.) Durante, Ind. a. diagn. chir. d. tumori, Rom 1876; Trattato di path. et. ter. chir. Rom 1896. 4.) Moſengeil, Arch. f. klin. Chir. Bd. XII. 5.) Biedert, Dtſche. med. Ztg. 1896. 6.) Bruns, Beitr. klin. Chir. 1886. 7.) Gerſter, Rep. of N. Y. surgical society. 8.) Bull, An. of surgery 1891. 9.) Hutchison, Ar. of clinic. surg. 1892. 10.) Fenney, zitiert n. Coley, Amer. journ. of med. 1893. 11.) Kleeblatt, M.M.W. 1890. 12.) Nach einer privaten Mitteilung von Herrn S. Beadle M.D., London (Tropenhyg. Institut). 13.) R. Müller, Lehrbuch der Hygiene, Lehmann 1935. 14.) Emmerich und Scholl, D.M.W. 1895. 15.) Richet und Hericourt, zit. n. Bruns, D.M.W. 1895. 16.) Coley, The americ. j. med. sc. 1, CVIII, Nr. 267 (1894). 17.) Czerny: M.M.W. 1895/36; Dtſche, med. W. 1895/43. 18.) Lassar, 19.) Sprouk, 20.) Friedrich, 21.) Winberg, zit. nach Bruns, D.M.W. 1895 Nr. 20. 22.) Kaposi, Lehrb. d. Hautkrankh. (1899). 23.) Strasser, in Kraus-Brugſch, Spez. Path. n. Ther. innerer Krankh. II, 2 (1919). 24.) Wolfheim, Z. klin. Med. 92, H. 4/6 507 (1921). 25.) Braunſtein, Z. Krebsforſchung. Bd. 29, Heft 5. 26.) Duschl, Dtſche. Z. Chir. Bd. 211, Heft 5 (1928). 27.) Okamoto, in O. Warburg, Stoffwechſel der Geſchwülſte, Springer, Berlin (1927). 28.) Warburg, O. (ſ. 27). 29.) Peterſen etc. Journal o. immun. Bd. IIX (1923). 30.) Kulenkampf, Hdb. d. path. Anat. der Tiere, Bd. 5 (1929). 31.) Unna, Hdb. der Dermatologie. 32.) Ackerknecht u. Krauſe, Pathologie d. Lymphgefäße im Hdb. der path. Anat. der Tiere, Bd. 5, S. 166 (1929). 33.) Winkler, i. Lubarſch-Oſtertag, Hdb. d. P. 34.) Kitt, in Lubarſch-Oſtertag, Hdb. d. P. 35.) Delbanco u. Callomon, Hdb. der Dermatologie. 36.) Goldmann, Beitr. klin. Chir. 18 (1897). 37.) Flacks, Z. Krebsforſch. Bd. 36, S. 476 (1932). 38.) Zeissler, in Kolle, Kraus, Uhlenbuth, Hdb. d. path. Mikroogr. (1929) Bd. IV, 1112—1117 u. Bd. X, 107—109. 39.) Baars, in Kolle, Kraus, Uhlenbuth, Hdb. d. path.-Mikroorg. (1929) Bd. IV, Teil II, S. 815.

Lebenslauf.

Geboren am 13. Juli 1912. Studium der Medizin vom S.S. 1930 bis zum W.S. 1935/36 an den Univerſitäten Halle, Graz, Würzburg (dort Phyſikum Oktober 1932), an der mediziniſchen Akademie Düſſeldorf und der Univerſität Bonn, dort Staatsexamen S.S. 1936.